Aus dem Röntgen-Institut der Universität Bern
Direktor: Prof. Dr. Ad. Liechti
Arbeit unter Leitung von Dr. W. Minder

Strahlenbiologische Versuche mit ultraviolettem Licht an der Puppe von Drosophila melanogaster

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Würde des Doktor medicinae
der Universität Bern

Vorgelegt von
Emil Bogenmann
aus Balsthal

Zürich 1942

Buchdruckerei Dr. J. Weiss, Affoltern am Albis

Aus dem Röntgen-Institut der Universität Bern
Direktor: Prof. Dr. Ad. Liechti
Arbeit unter Leitung von Dr. W. Minder

Strahlenbiologische Versuche mit ultraviolettem Licht an der Puppe von Drosophila melanogaster

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Würde des Doktor medicinae
der Universität Bern

Vorgelegt von
Emil Bogenmann
aus Balsthal

Zürich 1942

Buchdruckerei Dr. J. Weiss, Affoltern am Albis

Auf Antrag von Herrn Prof. Dr. Ad. Liechti von der medizinischen Fakultät zum Druck als Dissertation genehmigt.

Bern, den 4. März 1942.

Der Dekan der med. Fakultät:

Muralt.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

1. Einleitung

Mehrere Untersuchungen, besonders diejenigen von J. H. Müller (10), P. S. Henshaw (3), Ad. Liechti, W. Minder und J. H. Müller (6), sowie von M. Schweigert (12), H. Löwy (8) und R. Ehrmanova-Friedländer (1) haben gezeigt, daß die Puppe von Drosophila melanogaster ein sehr geeignetes strahlenbiologisches Objekt darstellt. Die Technik, nach der diese Puppen gezüchtet und für den eigentlichen Versuch vorbereitet werden, ist in den genannten Arbeiten eingehend beschrieben worden, so daß hier nicht näher darauf eingegangen werden soll. Im besonderen sind geklärt worden die Fragen nach der Wirkung von Röntgen- und Gammastrahlen, sowie die nach der Summation verschiedener Strahlenarten. In der Arbeit von H. Löwy wurde erstmals der Einfluß von ungefiltertem ultraviolettem Licht (Quecksilberdampflampe) untersucht, während sich die Arbeit von H. Schweigert mit den Wirkungen von β-Strahlen und gefilterten UV (im wesentlichen die Linie 366 m μ) beschäftigte. In dieser letzteren Arbeit wurde nun das bisher vereinzelt dastehende Resultat gefunden, daß die Schädigungskurve mit gefiltertem UV einen sehr ausgesprochenen S-Verlauf zeigte. Es mußte deshalb von besonderem Interesse sein, diesen Verlauf durch weitere Untersuchungen zu kontrollieren und ferner festzulegen, inwieweit ihm allgemeinere Bedeutung zukommt. Das geschieht wohl am besten dadurch, daß Schädigungskurven für verschiedene Bereiche des UV-Spektrums aufgenommen werden, wobei gleichzeitig die Frage beantwortet werden kann, welche Form diese Kurven in den verschiedenen Bereichen aufweisen. Sollte sich nämlich das Resultat ergeben, daß die Form der S-Kurve in verschiedenen Spektalbereichen eine verschiedene ist, so wäre dadurch eines der Hauptargumente der Treffertheorie der biologischen Strahlenwirkung in Frage gestellt.

Auf die Treffertheorie, die in diesem Zusammenhang erörtert werden könnte, soll hier nicht näher eingegangen werden, es ist das auch an anderer Stelle durch W. Minder (9) eingehender geschehen. Eines der Hauptargumente dieser Theorie besteht ja bekanntlich darin, daß bei Versuchen mit UV in vielen Fällen ein einziger „Treffer" zur beobachteten biologischen Reaktion (z. B. Tod des Objektes) führen soll. Dabei müssen als Schädigungskurven einfache Exponentialkurven resultieren.

Schon bei den Versuchen von H. Löwy war der anfängliche Anstieg der Schädigung mit zunehmender Dosis deutlich geringer als der einer einfachen Exponentialfunktion. Da dieses Resultat aber damals ganz vereinzelt dastand, und der S-Charakter des Schädigungsverlaufes auch nicht sehr ausgesprochen war, wurde dieser Frage erst in dem Moment eine größere Bedeutung beigemessen, als von M. Schweigert der sehr ausgesprochene S-förmige Verlauf der Schädigung mit gefiltertem UV gefunden worden war.

Im Gegensatz zu den Röntgen-, γ- und β-Strahlen, bei denen eine verschiedene Empfindlichkeit in verschiedenen Spektralbereichen resp. β-Strahlengeschwindigkeiten nicht erwartet werden kann und in den Versuchen auch nicht gefunden worden ist, ist im Ultraviolett von vornherein eine sehr starke Wellenlängenabhängigkeit der Empfindlichkeit des Objektes zu erwarten. Es ist das neben andern Faktoren (spezifische Absorption) besonders auch auf die verschiedene Schwächung des UV in den äußersten Schichten des Versuchsobjektes zurückzuführen. So wurde gefunden, daß beispielsweise für Bakterien die verwendeten Ultraviolettmengen verschiedener Spektralbereiche sich für ein und dieselbe Schädigungsgrade bis zu Werten wie 1:50000 verhalten können. Es ist dies der Hauptgrund dafür, daß es bis heute nicht möglich gewesen ist, eine für den ganzen Spektalbereich des UV gültige Einheit der Lichtdosis festzulegen.

Die Gesamtenergie der Emission einer Lichtquelle kann physikalisch unter Beachtung gewisser Maßregeln verhältnismäßig leicht gemessen werden mit Hilfe von Photozellen oder Thermoelementen. Dabei ist die Photozelle je nach ihrer Kon-

struktion (Art des Metallbelages) von der Wellenlänge des eingestrahlten Lichtes in starkem Maße abhängig. Sie verwandelt einen Teil des eingestrahlten Lichtes in elektrischen Strom.

Die Thermosäule dagegen mißt die gesamte Lichtenergie in Form von Wärme.

Bei beiden Arten der Messung ist aber ein Zusammenhang mit der Lichtdosis deshalb nicht ohne weiteres möglich, weil die meisten bisher untersuchten Objekte schon bei relativ geringen Wellenlängeänderungen außerordentliche Aenderungen der Empfindlichkeit zeigen, wobei aber die physikalischen Meßapparate durchaus in beiden Spektralbereichen denselben Wert anzeigen können. Es sagt demnach das Resultat einer solchen physikalischen Messung, wenn ihm nicht eine genaue Angabe des Spektralbereiches und der Intensitätsverteilung in diesem Spektralbereich beigefügt wird, über die zu erwartende biologische Wirkung gar nichts aus. Andererseits stehen Indikatoren, die eine einer generellen biologischen Reaktion ähnlich verlaufende Wirkung zeigen, auf der somit eine Dosismessung des Lichtes aufgebaut werden könnte, vorläufig nicht zur Verfügung.

Um aber trotzdem zu einem Zusammenhang zwischen physikalisch gemessenem Energiewert eines Spektralbereiches und dessen allgemeinerer biologischer Wirkung zu kommen, bleibt nur der Weg offen, möglichst viele und verschiedene biologische Objekte innerhalb derselben Spektralbereiche auf ihre Wirkung hin zu untersuchen. Dabei müssen selbstverständlich die äussern physikalischen Bedingungen bei all diesen Versuchen genauestens konstant gehalten werden.

Es ist somit eine der Aufgaben der vorliegenden Arbeit, die Verteilung der Empfindlichkeit inbezug auf eine bestimmte Reaktion (Tod) eines Objektes (Puppe von Drosophila melanogaster) für verschiedene Spektralbereiche des UV festzulegen. Dabei müssen diese Bereiche verhältnismäßig weit begrenzt werden. Da es nämlich nicht möglich ist, mit Spektralapparaten eine für strahlenbiologische Versuche an unserm Material genügende Intensität zu erhalten, so bleibt nur die Methode übrig, die verwendeten Spektralbereiche durch das Filterverfahren auszusondern. Die meisten der verwendeten Filter haben nun aber

Durchlässigkeitsbereiche, die sich über 50 und mehr m μ erstrecken.

Die zweite Aufgabe der vorliegenden Arbeit besteht darin, wie schon erwähnt wurde, zu untersuchen, inwieweit dem S-förmigen Verlauf der Schädigungskurve für unser Untersuchungsmaterial allgemeiner Charakter zukommt und inwieweit die Form der Schädigungskurve in den verschiedenen Spektralbereichen variiert.

Diese doppelte Fragestellung kann in ein und derselben Versuchsreihe gleichzeitig beantwortet werden.

2. Das Material

Die Züchtung der Puppe von Drosophila melanogaster zu strahlenbiologischen Versuchen ist schon in mehreren Arbeiten näher beschrieben worden. Es müssen dabei die von P. S. Hensh a w festgelegten Altersgrenzen der Puppen (Alter zwischen 11 und 22 Stunden) genau innegehalten werden. Innerhalb dieses Alters haben sich die Puppen gegenüber Röntgenstrahlen als praktisch gleich empfindlich erwiesen. Es ist zunächst keineswegs festgelegt, daß die Empfindlichkeit der Puppe innerhalb dieser Altersgrenzen auch für das UV eine konstante ist. Um aber die Resultate mit Hilfe von UV mit denen an Röntgenstrahlen vergleichen zu können, wurden die Puppen für die vorliegenden Versuche in genau derselben Weise gezüchtet wie für die Röntgenstrahlenversuche. Dabei weisen die Puppen einen maximalen Unterschied im Entwicklungsalter von 11 Stunden auf.

Für jede einzelne Betrahlung wurden ungefähr 100 Individuen verwendet, und für jede Bestrahlungsserie kamen 6—10 solche Portionen zur Untersuchung. Dabei wurden die Bestrahlungen für jede einzelne Beschädigungskurve 8 mal wiederholt, so daß insgesamt etwa 35 000 Puppen zur Bestrahlung kamen. Eine so große Zahl ist nur möglich, wenn sich das Material, wie das für die Puppe von Drosophila melanogaster zutrifft, leicht beschaffen läßt.

3. Technik der Bestrahlung

Als Strahlenquelle diente eine Quecksilberdampflampe Hanau, Type Jubiläumslampe SR. 300. Das gesamte Licht der Lampe wurde mit Hilfe eines Quarzkondensors konzentriert und auf die sich in einem Abstand von 40 cm befindlichen Puppen geworfen. Zur Kühlung diente ein Ventilator. Bei den verhältnismäßig sehr kurzen Bestrahlungszeiten war bei dieser Anordnung eine Schädigung des Materials durch die Wärmewirkung nicht zu befürchten. Zwischen Quarzkondensor und dem Träger für die Puppen war eine Blende angebracht, in die sich leicht die gewünschten Filter einschieben ließen. Somit brauchte zwischen den einzelnen Serien die Apparatur nicht verändert zu werden.

Um neben den von der Firma Schott & Gen. angegebenen Durchlässigkeitszahlen für die einzelnen Filter einen Integralwert der Durchlässigkeit zu besitzen, wurde die Strahlung am Orte der Applikation sowohl ohne Filter als auch für alle verwendeten Filtertypen mit Hilfe eines Thermoelementes gemessen. Dabei wurde die ungefilterte Strahlung gleich 100% gesetzt und die andern Energiemengen in Prozenten der Gesamtstrahlung ausgedrückt.

4. Auswertung des Materials

Wie in den frühern Versuchen wurden die bestrahlten Puppen am 6. Tage nach der Bestrahlung ausgezählt. Die Schädigung ist wie bei Röntgenstrahlen eine Spätschädigung. Die Puppen erreichen ein relativ hohes Entwicklungsstadium bevor der Tod durch die Bestrahlung eintritt. So weisen sie beispielsweise Augen und Flügel auf. Die im Puppenstadium zurückgebliebenen Exemplare erreichen diese Entwicklung nicht und können somit leicht als spontan geschädigte eliminiert werden. Es wurde aber bei der Feststellung der Spontanschädigung nicht nur auf dieses Kriterium Rücksicht genommen, sondern bei jeder einzel-

nen Versuchsreihe diente eine Portion von ebenfalls ca. 100 Puppen als Kontrolle, und diese machte die gesamten Operationen mit Ausnahme der Bestrahlung mit. Der prozentuale Anteil, der in dieser Kontrolle nicht geschlüpften Puppen ergab den Wert der Spontanschädigung.

Die Elimination der Spontanschädigung aus den Bestrahlungsresultaten wurde nach der von W. Minder (9) angegebenen Formel vorgenommen. Diese lautet:

$$St = \frac{S\text{-}Ss \;.\; 100}{100\text{-}Ss}$$

Dabei bedeuten St = Strahlenschädigung
S = Gesamtschädigung
Ss = Spontanschädigung.

Von jedem Kurvenpunkt wird dabei die Spontanschädigung prozentual subtrahiert. Zur Darstellung gelangt somit nur die Schädigung durch die Strahlung allein.

Für jeden einzelnen Kurvenpunkt standen 8 Einzelresultate zur Verfügung, die selbstverständlich in gewissen Grenzen voneinander abwichen. Für den dargestellten Kurvenpunkt wurde der Mittelwert der Einzelwerte berechnet und dazu der nach Gauß berechnete Fehler eingetragen. Die Endpunkte der mittlern Fehler wurden miteinander verbunden und das so entstandene Band schraffiert. Es deutet somit den mittleren Fehlerbereich der gesamten Schädigungskurve an. Die Fehlerberechnung ist für derartige Versuche von äußerster Wichtigkeit, da nur durch sie der wirkliche Kurvenverlauf bezüglich seiner Grenzen festgelegt werden kann. Andererseits kann dann aber bei Angabe des Fehlerbereiches innerhalb der experimentellen Grenzen kein Zweifel mehr über den wirklichen Schädigungsverlauf bestehen.

Jeder Schädigungskurve ist ferner der Verlauf ihrer Neigung (Variationskurve) beigefügt worden. Das geschah besonders im Hinblick auf die Beantwortung der Frage nach dem Kurvenverlauf.

5. Diskussion der Resultate

Es sollen zunächst die verwendeten Spektralbereiche kurz charakterisiert werden. In Abb. 1 sind die prozentualen Durchlässigkeiten der verwendeten Filter in Abhängigkeit von der Wellenlänge dargestellt. Die Grenzen des Spektrums wurden zwischen 200 und 500 m μ gewählt. In der gleichen Abbildung ist

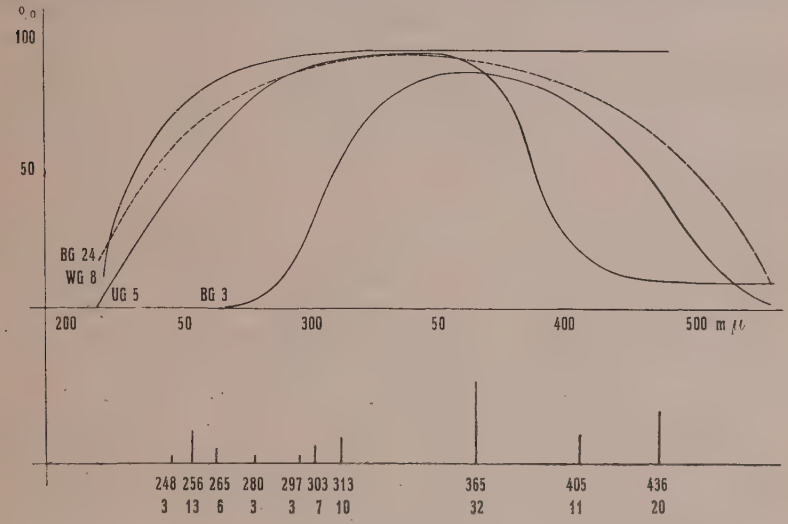

Abbildung 1

ferner die Verteilung der einzelnen Spektrallinien des Quecksilberbogens wiedergegeben. Die Länge jeder einzelnen Linie entspricht dabei der Energie in μ W, wie sie mit Hilfe des Thermoelementes gemessen werden kann. Diese Angaben sind den Messungen von W. Friedrich und E. Fischer (2), die an derselben Lampentype vorgenommen wurden, entnommen. Wie aus der Abbildung der Durchlässigkeitszahlen zu entnehmen ist, wurden die verwendeten Filter so gewählt, daß besonders im kurzwelligen Teil des Hg-Spektrums zwischen 250 und etwa 300 m μ größere Unterschiede der verwendeten Spektralbereiche auftraten. Das geschah im Hinblick auf die besonders dort zu erwartenden größern Empfindlichkeitsunterschiede des Objektes.

a. Versuche ohne Filter

Diese Versuchsreihe diente als Grundlage der gesamten Untersuchungen. Sie soll später noch gesondert besprochen werden. Wie schon erwähnt, waren die Verhältnisse für alle Versuche, mit Ausnahme der Filter, genau dieselben. Hier wirkte das gesamte Spektrum des Hg-Bogens auf die Puppen.

Die erhaltene Schädigungskurve zeigt einen sehr starken Anstieg mit zunehmender Bestrahlungszeit. Schon nach 5,5 Minuten Bestrahlung ist die Population zu 50% getötet. Die Halbwertsdosis entspricht somit für die vorliegenden Bestrahlungsverhältnisse einer Zeit von 5,5 Minuten. Der Versuch ist in Abb. 2 dargestellt.

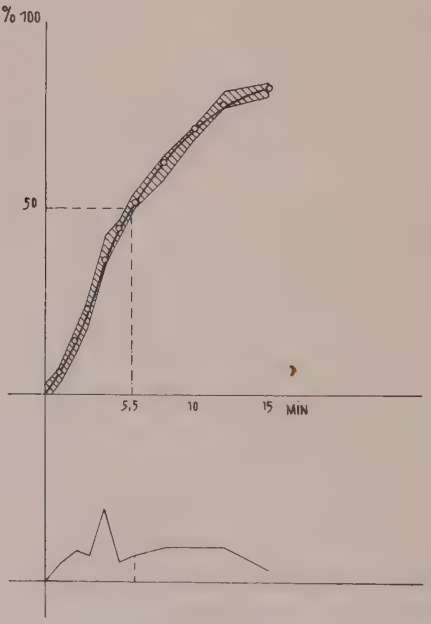

Abbildung 2 (leer)

Wie aus dem Verlauf des Fehlerbereichs und ganz besonders aus der Variationskurve hervorgeht, ist die Schädigungskurve für das ungefilterte UV eindeutig eine S-Kurve. Ohne

Angabe des Fehlerbereiches könnte dieser Verlauf leicht als reine Exponentialkurve gedeutet werden. Wie die Variationskurve zeigt, befindet sich die stärkste Zunahme des Schädigungsverlaufes bei 3,5 Minuten Bestrahlungszeit. Vor diesem Maximum erfolgt ein ziemlich starker Anstieg, nach diesem Maximum zunächst ein steilerer Abfall, der sich dann mit zunehmender Bestrahlungszeit langsam verflacht. Der Verlauf der Schädigung ist demnach eindeutig n i c h t exponentiell.

b. **Versuch mit Filter W. G. 8**

Dieses farblose Filterglas zeigt von einer Wellenlänge von 220 m μ an einen sehr steilen Anstieg seiner Durchlässigkeit (Abb. 1) und hat bei 240 m μ 63%, bei 270 m μ 90% und von etwa 330 m μ an 100% erreicht. Von da an läßt es alles Licht bis ins Infrarote durchtreten.

Wie die Schädigungskurve Abb. 3 zeigt, ist der Verlauf der Strahlenschädigung im gleichen Maßstab dargestellt wie Abb. 2, zunächst ziemlich flach bis zu einer Bestrahlungszeit von etwa 8 Minuten, um dann bis zur 20. Minute ziemlich rasch anzusteigen, worauf der Verlauf wieder flacher wird.

Die Halbwertsdosis, d. h. die Dosis, die zur Abtötung von 50% der Population notwendig ist, ist nach 16 Minuten erreicht.

Bis zu etwa 11 Minuten zeigt die Variationskurve einen ziemlich flachen Anstieg, um dann bei 16 Minuten ein scharfes Maximum zu erreichen. Von der 20. Minute an verläuft sie praktisch horizontal. Das bedeutet, daß von diesem Zeitpunkt an die Schädigung linear mit zunehmender Dosis verläuft.

Auch für den verwendeten Spektralbereich ist somit die Schädigungskurve eine Sigmoide, wobei aber der S-Charakter gegenüber der Schädigungskurve für ungefiltertes UV sehr viel ausgesprochener erscheint. Das mag z. T. damit zusammenhängen, daß die Schädigungskurve für das Filter W. G. 8 nach der Zeitachse wegen der etwa 3 mal längern Bestrahlungszeit ungefähr in diesem Verhältnis auseinandergezogen ist. Versucht

man, durch entsprechende Umrechnungen die Abszissen der Kurve Abb. 3 auf denselben Maßstab zu bringen, wie diejenige der Abb. 2, indem man beispielsweise die Halbwertsdosen einander gleichsetzt, so resultiert für das Filter W. G. ein Schädi-

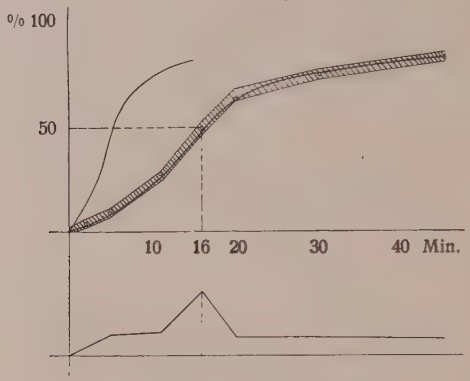

Abbildung 3 (WG 8)

gungsverlauf, der sich kaum von derjenigen des ungefilterten UV unterscheiden läßt. Es ist das auch zu erwarten im Hinblick auf die Tatsache, daß mit Ausnahme des ganz kurzwelligen Teiles des Hg-Spektrums in beiden Fällen dieselbe Strahlung auf das Untersuchungsmaterial eingewirkt hat.

c. Versuch mit Filter B. G. 24

Wie aus Abb. 1 entnommen werden kann, zeigt die Durchlässigkeitskurve dieses Blaufilters im kurzwelligen UV einen sehr ähnlichen Verlauf, wie diejenigen für W. G. 8. Seine Durchlässigkeit beginnt bei etwa 210 m μ, steigt bis zur Linie 256 m μ auf 63% an, hat weiter bei 313 m μ 96% erreicht, um dann von etwa 340 m μ an langsam wieder abzufallen. Das Filter ist noch durchlässig für den kurzwelligen Bereich des sichtbaren Teiles des Spektrums. Bei 480 m μ beträgt seine Durchlässigkeit noch 10%.

Die Schädigungskurve weist sehr große Aehnlichkeit zu der von W. G. 8 auf. Es ist diese Tatsache insofern nicht verwunderlich, als ja auch die Spektralbereiche beider Filter zwischen etwa 250 und 400 m μ praktisch fast dieselben sind. B. G. 24 zeigt bis zur Erreichung der HWD einen etwas flachern Verlauf. Es ist somit ihr S-Charakter etwas weniger ausgeprägt. Die HWD ist bei 14 Minuten Bestrahlungszeit erreicht, ein Wert, der ebenfalls sehr nahe an demjenigen des Filters W. G. 8 liegt.

Die Variationskurve zeigt einen kontinuierlichen flachen Anstieg bis zu 16 Minuten Bestrahlungszeit, um dann ziemlich rasch auf kleine Werte abzufallen, wie aus Abb. 4 hervorgeht.

Für das Filter B. G. 24 ist ebenfalls der Versuch unternommen worden, den Schädigungsverlauf des durchgelassenen Spektralbereiches auf den Maßstab der ungefilterten UV-Strahlung umzurechnen. Dabei resultiert eine Schädigungskurve, die sich

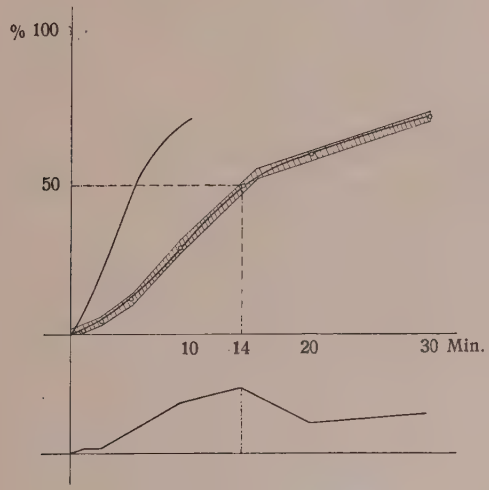

Abbildung 4 (BG 24)

nicht unwesentlich von derjenigen des ungefilterten UV unterscheidet. Einzig der Anstieg für kleine Dosiswerte verläuft für B. G. 24 zunächst wesentlich steiler, so daß man in diesem Maßstab fast das Bild einer reinen Exponentialkurve erhält. Es zeigt

dieses Beispiel besonders eindringlich, wie vorsichtig man sein muß, wenn man den funktionellen Charakter eines derartigen Schädigungsverlaufes nur aus einer einzigen Kurve ableiten will.

d. **Versuch mit Filter B. G. 3**

Auch dieses Filter ist ein Blauglas. Es unterscheidet sich aber von B. G. 24 darin, daß es den kurzwelligen Teil des Ultravioletten vollständig wegschneidet. Seine Durchlässigkeit beginnt flach bei etwa 270 m μ, hat bei 300 m μ 27% erreicht, steigt weiter an bis zu einem Maximum bei 366 m μ, um dann stetig gegen das kurzwellige Sichtbare abzufallen. Von 530 m μ an ist das Filter wieder undurchlässig. (Abb. 1).

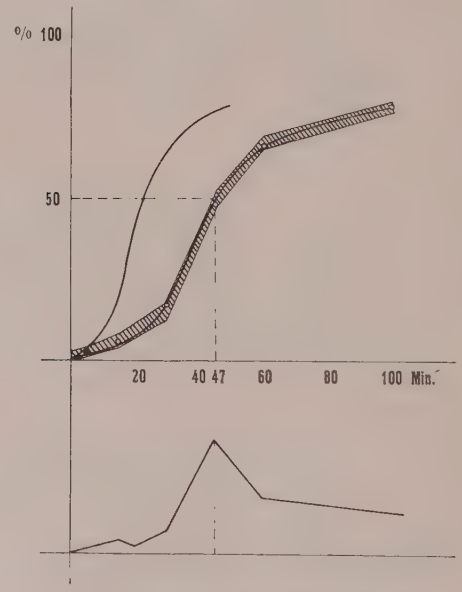

Abbildung 5 (BG 3)

Wie Abb. 5 zeigt, sind für diesen langwelligen Spektralbereich des UV die Bestrahlungszeiten wesentlich längere. So ist beispielsweise die HWD erst bei 47 Minuten erreicht. Die Schädigungskurve steigt im ersten Drittel (bis 30 Minuten) nur

schwach an, ihre Steilheit ist im 2. Drittel zwischen 30 und 60 Minuten sehr groß. Im 3. Abschnitt zwischen 60 und 100 Minuten verläuft die Schädigungskurve wieder ziemlich flach. Sie ist somit eine ausgesprochene Sigmoide. Der Sigmoidencharakter kommt ebenfalls in der Variationskurve sehr deutlich zum Ausdruck: flacher Anstieg im 1. Drittel, scharfes Maximum zwischen 30 und 60 Minuten, flacher Verlauf bis zu 100 Minuten.

Uebertragen auf den Maßstab der Schädigungskurve mit ungefiltertem UV ergibt sich für B. G. 3 ein Verlauf der Schädigung, der im wesentlichen denselben Charakter zeigt wie für das ungefilterte Hg-Spektrum. Diese Tatsache kommt auch in der formalen Aehnlichkeit der beiden Variationskurven (flacher Anstieg und Abfall, dazwischen scharfes Maximum) zum Ausdruck.

e. Versuch mit Filter U. G. 5

Das Filter U. G. 5 ist ein ausgesprochenes Ultraviolettglas. Seine Durchlässigkeit beginnt bei etwa 220 m μ und steigt bis ungefähr 280 m μ, praktisch linear bis auf 80% Durchlässigkeit an. Bei 340 m μ hat die Durchlässigkeit das Maximum von 99% erreicht, worauf von etwa 380 m μ an ein sehr rascher Abfall erfolgt. Oberhalb 430 m μ ist die Durchlässigkeit praktisch konstant und beträgt 10%. Das Filter hat somit im kurzwelligen Teil des UV quantitativ eine etwas geringere Durchlässigkeit als die beiden ähnlichen Filter W. G. 8 und B. G. 24, währenddem der Verlauf der Durchlässigkeit für diesen Bereich diesen beiden Filtern ähnlich und fast parallel ist. Verglichen mit allen andern verwendeten Filtern schneidet U. G. 5 den sichtbaren Teil des Spektrums praktisch vollständig ab.

Die Schädigungskurve (Abb. 6) zeigt einen deutlichen S-Verlauf. Quantitativ sind die zur Schädigung notwendigen Bestrahlungszeiten denen der Filter W. G. 8 und B. G. 24 ähnlich, zeigen aber für alle Schädigungsverhältnisse durchgehend etwas geringere Zeiten. Die Halbwertsdosis entspricht einer Bestrahlungszeit von 11 Minuten.

Der Sigmoidencharakter kommt auch in der Variationskurve sehr deutlich zum Ausdruck. Diese zeigt anfänglich einen sehr flachen Verlauf, weist weiter ein ziemlich breites Maximum auf, um sich bei größern Bestrahlungszeiten wieder stark abzuflachen.

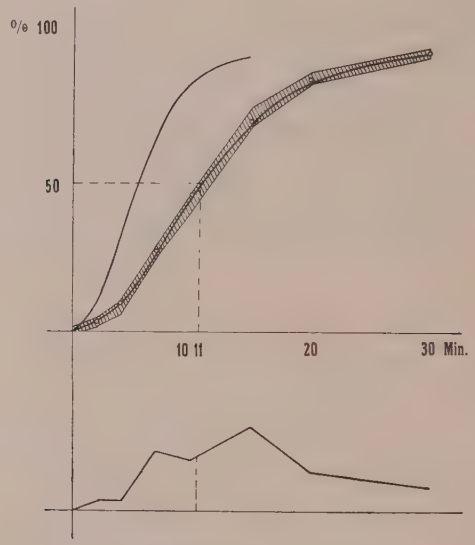

Abbildung 6 (UG 5)

Versucht man die Schädigungskurve ebenfalls im Maßstab derjenigen für die ungefilterte Bestrahlung darzustellen, so erhält man einen Verlauf, der mit dieser eine große Aehnlichkeit aufweist.

6. Auswertung der Versuchsergebnisse

Unternimmt man den Versuch, die Resultate der einzelnen Versuchsreihen miteinander zu vergleichen, so macht man zunächst die Feststellung, daß der qualitative Verlauf der Schädigungskurven der einzelnen Bestrahlungsserien keine wesent-

lichen Unterschiede zeigt. Das kommt besonders deutlich zum Ausdruck, wenn man alle Schädigungskurven auf ein und dieselbe Halbwertsdosis bezieht, d. h. die verschiedenen Spektralbereiche, wie sie in den vorstehenden Versuchen verwendet worden sind, bezüglich ein und derselben Schädigung miteinander vergleicht. Die einzelnen Schädigungskurven sind nicht identisch, die Unterschiede sind jedoch nur derart, daß man nicht berechtigt ist, daraus irgendwelche Schlüsse inbezug auf den Schädigungsmechanismus abzuleiten.

Des weitern geht aus der Darstellung sämtlicher Schädigungskurven in demselben Zeitmaßstab (Abb. 7) hervor, daß das verwendete Versuchsmaterial, also die Puppe von Drosophila melanogaster eine sehr starke Empfindlichkeitsabnahme vom kurzwelligen zum langwelligen UV aufweist. Es ist das eine ganz allgemeine Erscheinung, die auch an vielen andern biologischen Objekten gefunden worden ist. So beträgt beispiels-

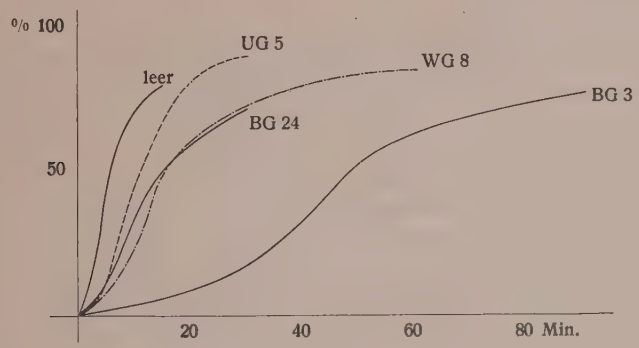

Abbildung 7

weise die zur 50%igen Schädigung notwendige Zeit für den langwelligen Spektralbereich zwischen 300 und 500 m μ (B. G. 3) etwa das 3—4fache der Zeiten für diejenigen Filter, die auch wesentliche Teile des kurzwelligen UV durchlassen. Gegenüber dem ungefilterten UV verhalten sich die Bestrahlungszeiten für den langwelligen Teil (B. G. 3) grob wie etwa 9 : 1, für die Filter W. G. 8 und B. G. 24 grob wie etwa 2,5 : 1 und für das Filter U. B. 5 etwa wie 2 : 1. Der Spektralbereich von U. G. 5 weicht

somit von der allgemeinen Regel der Empfindlichkeitsabnahme mit zunehmender Wellenlänge ab.

In Tabelle 1 sind die genauen Zahlen für jeden Filterbereich für die Schädigungen von 25%, 50% und 75% zusammengestellt. Die Tabelle enthält neben der in Prozenten der Gesamtstrahlung (100) mit Hilfe der Thermosäule gemessenen Energien, die zu den obgenannten Schädigungsverhältnissen (25%, 50%, 75%) notwendigen Bestrahlungszeiten und ferner die entsprechenden Verhältniszahlen, wobei die Zeiten für die ungefilterte Strahlung gleich 1 gesetzt wurden.

Tabelle 1

Filter	Energie in %	Schädigung			Schädigungsverhältnis		
		25 %	50 %	75 %	25 %	50 %	75 %
O. F.	100	3,5	5,5	12	1	1	1
U. G. 5	19	7	11	16,5	2	2	1,4
B. G. 24	21	8	14	30	2,3	2,5	2,5
W. G. 8	40,5	10,5	15	30	3	2,7	2,5
B. G. 3	18,3	34	47	87	9,5	8,5	7,3

Wie aus der Tabelle hervorgeht, sind die zu einer bestimmten Schädigung notwendigen Bestrahlungszeiten für die Filter U. G. 5 und B. G. 24 etwa doppelt so groß wie diejenigen für das ungefilterte UV. Für W. G. 8 ist die Bestrahlungszeit etwa 3 mal so groß, für B. G. 3 ca. 9 mal so groß. Aus diesen Zahlen soll nun versucht werden, den für die Schädigung besonders verantwortlichen Wellenlängenbereich aufzusuchen.

Die verwendeten Filter wurden so gewählt, daß in Verbindung mit dem ungefilterten UV-Licht alle drei Spektralbereiche des Hg-Bogens gesondert betrachtet werden können. Während nämlich im Versuch ohne Filter der ganze Spektralbereich wirksam war, wurden bei den Filtern W. G. 8, B. G. 24 und U. G. 5 die Hg-Linien unter 350 m μ teilweise, diejenigen etwa unter 220 m μ vollständig weggenommen. Beim Versuch mit Filter B. G. 3 dagegen war erst der Spektralbereich oberhalb etwa

300 m μ wirksam. Am meisten Aehnlichkeit mit dem ungefilterten Licht weist das mit W. G. 8 gefilterte Licht auf, indem es oberhalb etwa 270 m μ praktisch vollständig durchgelassen wird. Auf der Seite des kurzwelligen UV sind die Filter B. G. 24 und U. G. 5 beide etwas weniger durchlässig als W. G. 8 (Abb. 1), so daß auch in diesem Spektralbereich eine Variation der verwendeten Lichtqualitäten möglich war. Große Unterschiede weisen dagegen die Filter im sichtbaren Spektralbereich auf. Während U. G. 5 hier fast undurchlässig ist, reicht B. G. 24 bis etwa 530 m μ, B. G. 3 etwa bis zur selben Wellenlänge, während W. G. 8 hier überhaupt nicht schwächt.

Aus der Tabelle ist zu entnehmen, daß der besonders wirksame Spektralbereich unterhalb der besonders intensiven Hg-Linie von 366 m μ zu suchen ist. Da nämlich die Durchlässigkeit aller Filter für diese Linie fast dieselbe ist, so müßte für B. G. 3 eine ähnliche Schädigungsdosis resultieren wie für die andern Filter. Das ist nicht der Fall, sondern die für B. G. 3 notwendigen Bestrahlungszeiten sind 3—4 Mal größer als die der andern Filter. Daraus kann der erste Schluß gezogen werden, daß die Linie 366 m μ bezüglich der Schädigung 3—4 mal weniger wirksam ist, als die Spektralbereiche mit kürzerer Wellenlänge.

Untersucht man die Schädigungsverhältnisse für den Spektralbereich zwischen 297 und 313 m μ (3 Linien mittlerer Intensität), so sieht man wiederum aus Abb. 1 und Tabelle 1, daß beispielsweise für die Linie 303 m μ die Durchlässigkeitszahl für B. G. 3 30%, diejenigen der Filter W. G. 8, B. G. 24 und U. G. 5 etwas über 90% betragen. Uebereinstimmend mit diesem Durchlässigkeitsverhältnis ist die Tatsache, daß die Schädigung für W. G. 8 im besondern ziemlich genau 3 mal größer ist als diejenige für B. G. 3. An dieser Stelle des Spektrums entspricht das Schädigungsverhältnis ziemlich genau dem Durchlässigkeitsverhältnis. Daraus darf der Schluß gezogen werden, daß in der Gegend von 303 m μ die Puppe von Drosophila melanogaster eine deutliche Empfindlichkeit aufweist.

Der Emissionskomplex 248, 254, 265 und 280 m μ wird durch das Filter B. G. 3 praktisch vollständig weggenommen. Dagegen sind für die besonders intensive Linie 254 m μ die Filter U. G. 5,

B. G. 24 und W. G. 8 verschieden durchlässig. Während beispielsweise U. G. 5 nur 53% dieser Linie durchläßt, betragen die Durchlässigkeitszahlen für B. G. 24 69% und für W. G. 8 80%. Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, sind die Schädigungsverhältnisse dieser 3 Filter aber fast umgekehrt wie die Durchlässigkeitszahlen für 254 m μ. Demzufolge kann der Bereich um 250 m μ herum für die Schädigung unseres Objektes nicht mehr besonders wirksam gewesen sein, was auch der Versuch ohne Filter zeigt, wie weiter unten noch näher besprochen werden soll. Es engt sich somit der wirksame Spektralbereich für unser Material immer mehr ein und er muß etwa zwischen den Grenzen von 250 m μ und 300 m μ liegen. Die Drosophila-Puppe hat demnach eine besondere Empfindlichkeit gegenüber UV, die zwischen 250 und 300 m μ liegt und etwa in der Gegend von 280 m μ ihr Maximum aufweist.

Diese Behauptung wird besonders auch durch den Versuch ohne Filter gestützt. Aus Tabelle 1 ist ersichtlich, daß die Lichtenergie für U. G. 5 und B. G. 24 rund 5 mal kleiner war, als diejenige ohne Filter. Die Schädigungsrate ist aber nur 2—2.5 Mal kleiner als diejenige des ganzen Spektrums. Für B. G. 8 beträgt die Lichtenergie etwa 40% des Gesamtspektrums, ihre Wirkung ist aber etwa 2,5—3 mal kleiner. Dagegen ist das langwellige Spektrum für die Versuche mit W. G. 8 und ohne Filter praktisch identisch. Es kann somit unser Objekt im kurzwelligen UV keine große Empfindlichkeit mehr aufweisen, da sonst die Schädigungsverhältnisse besonders dort größere als die gefundenen Schwankungen aufweisen müßten.

Die Erklärung für diese Verhältnisse bildet ein Vergleich unserer Resultate mit den Versuchen von A. Liechti an Ascarideneiern, bei denen am Monochromator ein Empfindlichkeitsmaximum bei 280 m μ gefunden worden ist. Aus der gleichen Arbeit geht hervor, daß für die Wellenlängen unterhalb 250 m μ die Empfindlichkeit deshalb abnimmt, weil von hier an abwärts die Chitinhülle des Ascariseies besonders absorbiert. Im Gegensatz dazu steigt beispielsweise für Bakterien (Prodigiosus) die Empfindlichkeit mit kleiner werdender Wellenlänge dauernd an. Da auch unser Objekt einen dicken Chitinpanzer aufweist, so

ist die Analogie seiner Empfindlichkeitsverteilung mit derjenigen der Ascariseier ohne weiteres gegeben und durch unsere Versuche auch bestätigt worden.

Es soll noch versucht werden, für das Paradoxon, daß U. G. 5, welches im kurzwelligen UV wesentlich stärker absorbierend wirkt als W. G. 8, doch eine höhere Schädigung zeigt, eine Erklärung anzugeben. Dabei soll hier beigefügt werden, daß diese Erklärung nicht ganz zwanglos und auch die darin angeführten Argumente nicht allgemein anerkannt sind.

H. Schreiber (11) hat gezeigt, daß bei Additionsversuchen mit ultraviolettem und infrarotem Licht die Wirkung des UV durch Nachbestrahlung mit Infrarot teilweise aufgehoben wurde. Daraus ist zu schließen, daß die Wirkung dieser beiden weitauseinanderliegenden Spektralbereiche entgegengesetzt sein können und zwar in dem Sinne, daß Schädigungen durch UV durch Infrarot z. T. rückgängig gemacht werden können. Diese Tatsache kann zur Erklärung herangezogen werden dafür, daß U. G. 5 von allen Filtern am meisten schädigt. W. G. 8 hat im Kurzwelligen und im Langwelligen von allen drei betrachteten Filtern die größte Durchlässigkeit. Es weist im Hinblick auf die von H. Schreiber gemachten Feststellung infolge seines großen Anteils an langwelligem Licht die geringste Schädigung auf. Das Filter U. G. 5 hat von den drei hier betrachteten Filtern im kurzwelligen Bereich die größte Absorption. Zudem schneidet es aber das sichtbare fast vollständig ab. Da also hier die die Schädigung aufhebende Wirkung des Langwelligen nicht stattfinden kann, überwiegt der schädigende Effekt des Kurzwelligen, wodurch sein Schädigungsverhältnis größer wird.

Der Strahlenbereich des Filters W. G. 24 liegt sowohl im kurzwelligen als auch im langwelligen Bereich zwischen den beiden soeben betrachteten Filtern, und auch das Schädigungsverhältnis liegt interessanterweise zwischen denen von W. G. 8 und U. G. 5.

7. Ergebnisse und Zusammenfassung

Auf die eingangs gestellten Fragen können anhand unserer Versuchsresultate die folgende Antwort gegeben werden:

Für alle untersuchten Spektralbereiche ist die Schädigungskurve unseres Materials mit UV eine ausgesprochene Sigmoide. Es konnten keine Variationskurven gefunden werden, die nicht einen Anstieg, ein Maximum und einen Abfall zeigten. Ausgesprochene qualitative Unterschiede der einzelnen Schädigungs- resp. Variationskurven konnten nicht aufgefunden werden. Werden besonders die Schädigungskurven alle in demselben Maßstab dargestellt, derart, daß für alle Bereiche die Halbwertsdosis gleichgesetzt wird, so resultieren nur so geringfügige Unterschiede, daß aus ihnen keine weitergehenden Schlußfolgerungen gezogen werden können.

Quantitativ zeigen sich die Unterschiede in den verschiedenen Spektralbereichen besonders in der zur Schädigung notwendigen verschiedenen Bestrahlungszeit. Diese Zeiten liegen für die Halbwertsdosis zwischen 5,5 Minuten (Versuch ohne Filter) und 47 Minuten (Filter B. G. 3). Die zur Halbwertsdosis notwendigen Bestrahlungszeiten für U. G. 5 einerseits und W. G. 8 und B. G. 24 andererseits betragen 11 resp. 14 und 15 Minuten. Die Resultate aller durchgeführten Versuche sind in Abb. 7 in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit dargestellt. Es folgt aus dieser Darstellung ohne weiteres in Verbindung mit Tabelle 1, daß das verwendete Objekt in den untersuchten Spektralbereichen eine starke Variabilität der Empfindlichkeit aufweist.

Das Maximum der Empfindlichkeit wurde in der Gegend von 280 m μ gefunden, wobei die Grenzen dieses besonders wirksamen Bereiches etwa zwischen 250 m μ und 300 m μ liegen. Es steht dieses Ergebnis in guter Uebereinstimmung mit ähnlichen Versuchen von A. Liechti an Eiern von Ascaris, und ist damit zu erklären, daß in beiden Objekten die Wellenlängen unterhalb etwa 250 m μ durch die Chitinhülle so stark absorbiert werden, daß sie nicht mehr zur Wirkung gelangen können.

Neben der schädigenden Wirkung des UV macht sich aber bei unserem Objekt der sichtbare Teil des Spektrums geltend. Seine Wirkung besteht im wesentlichen in einer Abschwächung der Wirkungen des UV. Nur auf diese Weise ist es möglich, für das paradoxe Verhalten der Filterbereiche U. G. 5, B. G. 24 und W. G. 8 eine Erklärung zu finden. Diese Erklärung steht in Uebereinstimmung mit Versuchen anderer Autoren, bei denen ähnliche Effekte beobachtet worden sind.

Literaturverzeichnis

1. R. Ehrmanowa-Friedländer: Diss. Bern 1940.
2. W. Friedrich und E. Fischer: Untersuchungen zur Ultravioletttdosimetrie. Strahlentherapie. 58. 94.
3. P. S. Henshaw: Radiology 27. 1936. 569.
4. P. Jordan: Ueber biologische Wirkungen ultravioletter Lichtquanten. Zeitschrift für Biologie.
5. A. Liechti und E. Feistmann: Ueber die Empfindlichkeit von Einzellern auf ultraviolettes und sichtbares Licht. Strahlentherapie 62. 1938.
6. A. Liechti, W. Minder und J. H. Müller: Strahlenbiologische Versuche mit Drosophila-Puppen. Strahlentherapie 63. 1938. 689.
7. A. Liechti und M. Minder: Mechanismus der biologischen Strahlenwirkung. Radiol. Clin. 10. 1941. 104.
8. H. Löwy: Diss. Bern 1940.
9. W. Minder: Ueber strahlenbiologische Versuche mit der Puppe Drosophila melanogaster. Strahlentherapie 68. 1940. 30.
10. J. H. Müller: Am. J. Canc. 32. 1938. 565.
11. H. Schreiber: Ueber den Primärvorgang der biologischen Strahlenwirkung Arch. exp. Zellforschung. 22. 1939. 410.
12. M. Schweigert: Diss. Bern 1939.